

اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (*Scrophularia striata* Boiss) بر تشنج ناشی

از پنتیلن تترازول در موش سوری

بنیامین علی محمدی^۱، حسن اژدري زرمهری^{۲*}، محمد صوفی آبادی^۳، علیرضا مسلم^۴

خلاصه

مقدمه: صرع به مجموعه‌ای از اختلالات سیستم اعصاب مرکزی گفته می‌شود که به صورت تشنجات ناگهانی، زودگذر، تکرار شونده و غیر قابل پیش‌بینی با منشأ حسی- حرکتی و اتونوم ظاهر می‌شود. در حال حاضر برای درمان صرع و تشنجات ناشی از آن، داروهای شیمیایی مختلفی استفاده می‌شود که مصرف این داروها نیز به نوبه خود دارای عوارضی می‌باشند و در مصرف طولانی مدت سبب بروز مقاومت دارویی می‌شوند. سهولت استفاده از گیاهان دارویی و مقبولیت عام آن‌ها بستر مناسبی را برای استفاده از گیاهان دارویی فراهم نموده است. گیاه مخلصه (*Scrophularia striata* Boiss) که در مناطقی از استان ایلام می‌روید و به نام تشنه‌داری معروف است، سال‌هاست که به صورت تجربی در درمان بیماری‌های مختلف به کار می‌رود. با این وجود مطالعات زیادی روی آن صورت نگرفته است؛ بنابراین در این پژوهش خاصیت ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی این گیاه بر روی تشنج ناشی از پنتیلن تترازول (Pentylentetrazol یا PTZ) بررسی شد.

روش: در مطالعه حاضر، ۴۰ موش سوری نر با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم به طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه ۸ تایی تقسیم شدند که شامل یک گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالیین و PTZ ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و ۴ گروه درمان (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بودند. ۳۰ دقیقه پس از تجویز داخل صفاقی نرمال سالیین (در گروه شاهد) و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (در گروه‌های تحت درمان)، پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به موش‌ها تزریق و بلافاصله به قفس مخصوص منتقل شدند و رفتارهای تشنجی طی ۲۰ دقیقه توسط دوربین فیلمبرداری گردید و سپس مراحل مختلف تشنج مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تزریق عصاره هیدروالکلی این گیاه در دوز ۱۵۰ میلی گرم اثر معنی‌داری بر آستانه زمان رسیدن به مراحل مختلف تشنجی نداشت. تزریق عصاره هیدروالکلی این گیاه در دوز ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم باعث تأخیر در زمان شروع تشنج تونیک، کلونیک و تونیک-کلونیک شد. تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در تمام دوزها باعث کاهش مدت زمان تشنج تونیک و تونیک-کلونیک و همچنین باعث کاهش بروز عدم تعادل و پرش در حیوانات هنگام تشنج شد. تزریق عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه مرگ و میر را به صفر رساند که حاکی از غیر سمی بودن آن بود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه دارای خاصیت ضد تشنجی مناسبی است و به نظر می‌رسد که مطالعات آینده برای جداسازی و تعیین مواد مؤثر و شناخت مکانیسم اثر آن ضروری باشد.

واژه‌های کلیدی: گیاه مخلصه، اثر ضد تشنجی، پنتیلن تترازول، تشنج

۱- دانشجوی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین ۲- استادیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین ۳- دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین ۴- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات سلامت سالمندی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: hasan.azhdari@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۹/۱۱ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۶/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۶/۲۸

مقدمه

صرع از بیماری‌های بسیار شایع در همه کشورها است؛ به گونه‌ای که شیوع آن حدود ۷ تا ۹ در هزار می‌باشد و در همه سنین، همه نژادها و هر دو جنس بروز می‌کند (۱). در نورولوژی کودکان، صرع (Epilepsy) شایع‌ترین بیماری است. علل زیادی مانند هیپوپاراتیروئیدی، تومورها، منتزیت، هیپوکسمی و موارد دیگری ممکن است حالات صرعی ایجاد کند؛ بنابراین لازم است بیمار از این لحاظ بررسی شده باشد. در مواردی که علت مشخصی برای حملات صرعی یافت نشود، واژه صرع ایدیوپاتیک (Idiopathic) یا اولیه به کار می‌رود (۲، ۳).

تشنج علامتی از یک اختلال مغزی ناگهانی به صورت فعالیت الکتریکی غیر طبیعی است و تشنج حاصل از این تغییر فیزیکی ناشی از فعالیت‌های غیر طبیعی در مغز می‌باشد. در واقع تشنج نشانه بروز یک فعالیت نوروئی هم‌زمان و غیر طبیعی در مغز است و می‌تواند به صورت تغییر در وضعیت روانی - حرکتی تونیک و کلونیک بروز کند و بسته به این که این فعالیت نابجای الکتریکی در کدام قسمت مغز رخ دهد، تظاهرات بیماری متفاوت خواهد بود. اغلب تشنج‌ها بین ۳۰ ثانیه تا ۲ دقیقه طول می‌کشد، ولی اگر بیش از ۵ دقیقه به طول انجامد وضعیت بحرانی ایجاد می‌شود (۳-۷).

داروهای که هم اکنون در درمان صرع به کار می‌روند مانند دیگر داروهای شیمیایی دارای عوارض بسیار زیادی می‌باشند که به چند مورد از آن‌ها اشاره می‌شود:

مصرف فنی توئین یا فنوباریتال منجر به کاهش جذب ویتامین D، کلسیم و اسیدفولیک در بدن شده و بدین ترتیب باعث به وجود آمدن عارضه هیپرپلازی (Hyperplasia) لثه می‌گردد. در صورت مصرف فنوباریتال، از فعالیت‌هایی که نیاز به هوشیاری دارند مانند رانندگی یا کار با ماشین آلات

باید خودداری شود. همچنین این دارو ممکن است باعث بروز علائم تب، گلودرد، ناخوشی، کبودی، خونریزی ساده، پتشی (Petechiae)، یرقان و راش در بیماران گردد (۸-۱۰).

به طور کلی بیمارانی که داروی ضد تشنج مصرف می‌نمایند به دلیل احتمال گیجی و خواب آلودگی، باید از انجام کارهایی که نیازمند به هوشیاری کامل و هماهنگی جسمانی می‌باشد، خودداری نمایند (۳، ۴). از گذشته تاکنون توجه ویژه‌ای به داروهای گیاهی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری صرع شده است (۱۱-۱۳).

طبیعت منبعی غنی از گونه‌های گیاهانی است که تاکنون برای درمان انواع بیماری‌ها به صورت ضد تشنج، ضد درد، ضد افسردگی، ضد اضطراب و ... به کار رفته است. از گذشته دور تاکنون هم در ایران و هم در سایر کشورها برای درمان تشنج از گیاهان بسیار زیادی استفاده شده است که برای نمونه می‌توان به گل گاو زبان، سنبل الطیب، چای سبز، اکانتاسه و پرک هندی اشاره نمود (۱۴). ضرورت استفاده از گیاهان دارویی این است که از یک طرف داروهای معمول شیمیایی مورد استفاده برای درمان تشنج و صرع دارای عوارض جانبی و برزو مقاومت دارویی هستند و هزینه اقتصادی بالایی بر جامعه و خانواده تحمیل می‌کنند و از طرف دیگر سهولت استفاده از گیاهان دارویی و مقبولیت عام آن‌ها بستر مناسبی را برای استفاده فراهم نموده است (۸، ۹، ۱۵). از طرف دیگر کشور ایران منبع غنی از داروهای گیاهی می‌باشد و بستر مناسبی برای تولید انواع گیاهان دارویی دارد.

گیاه مخلصه (*Scrophularia striata* Boiss) که در فصل بهار در دامنه کوه‌های زاگرس و در حاشیه اکثر شهرستان‌های استان ایلام می‌روید، گیاهی بوته‌ای می‌باشد که سال‌هاست به صورت تجربی در درمان بیماری‌های مختلف به کار می‌رود و در ایلام به این گیاه تشنه‌داری

تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری

عصاره آبی-الکلی (هیدروالکلی): ۱۰۰ گرم از پودر گیاه مخلصه در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر و ۵۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درصد ریخته و در یک بالن ۲۰۰۰ سی‌سی به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۲ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. لازم است در ۱۲ ساعت چند بار محلول را توسط شیکر تکان دهیم. بعد از ۷۲ ساعت محلول را با کاغذ صافی صاف نموده، در یک بالن استریل و دارای لوله کوتاه (خروجی) قرار دادیم و بعد از این که محلول صاف گردید، محلول حاصل شده را فیلتر نموده، آن را در داخل بن‌ماری (حمام آب‌جوش در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد) قرار می‌دهیم. هنگامی که محلول تغلیظ شد، آن را به داخل پلیت استریل منتقل کردیم و در انکوباتور در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌گذاریم تا عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه خشک شود.

ایجاد تشنج: مدل مطالعاتی در این آزمایش، مدل صرع پنتیلین تترازول بود. پنتیلین تترازول (Pentylentetrazol یا PTZ) (سیگما) در محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شد (۱۷، ۱۳) و با دوز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی (Intra protaneal یا IP) به حیوانات تزریق و به تدریج باعث بروز تشنج شد. شدت تشنج در این مدل مطابق با مراحل زیر ارزیابی گردید.

مرحله تونیک: سفتی شدید عضلات و کشیده شدن دست‌ها و پاها به طرفین.

مرحله کلونیک: یک دوره کوتاه مدت از تشنج با حرکات پیچشی سر و گردن و حرکات دست‌ها و پرش‌های شدید و دور زدن.

مرحله تونیک-کلونیک: تشنج‌های جنرالیزه با انقباض‌های تونیک ناگهانی و حالات صرع پایدار همراه با پرش‌های بسیار کوتاه مدت.

می‌گویند. این گیاه توسط کارشناسان دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز و مرکز تحقیقات کشاورزی جهاد کشاورزی استان خوزستان شناسایی شد (۱۶). با این وجود، مطالعه زیادی روی آن صورت نگرفته است. این گیاه دارای خواص مختلف دارویی از جمله آرام‌بخشی و ضد دردی می‌باشد و به همین منظور در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر تشنجات ناشی از تزریق پنتیلین تترازول در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت (۱۶).

روش بررسی

حیوانات و شرایط آزمایش: در این مطالعه از موش سوری نر سوئیزی با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم (که از مؤسسه رازی حصارک کرج خریداری شده بودند) استفاده شد. حیوانات آزمایشگاهی در اتاق مخصوص حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی قزوین نگهداری می‌شدند. حیوانات مورد آزمایش نیز در اتاقی با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و در دوره ۱۲ ساعته تاریکی-روشنایی قرار داشتند و در مدت نگهداری به طور آزادانه آب و غذا در اختیار داشتند و قبل از هر آزمایش توسط پژوهشگر بررسی می‌شدند. از هر موش فقط یک بار برای آزمایش استفاده شد و تمام آزمایش‌ها بین ساعت ۹ تا ۱۷ صورت گرفت.

تهیه گیاه: گیاه مخلصه در فصل بهار از دامنه کوه‌های استان ایلام (زاگرس) جمع‌آوری و در سایه خشک شد. این گیاه توسط کارشناسان دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز و مرکز تحقیقات کشاورزی جهاد کشاورزی استان خوزستان شناسایی گردید.

تهیه گیاه خشک: ریشه و ساقه گیاه مخلصه پس از خشک شدن با آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآورده می‌شدند.

همچنین پرش (پرش‌های ناگهانی بالاتر از ۲۰ سانتی‌متر از سطح زمین) و از دست دادن تعادل (افتادن موش‌ها در اثر تشنج به یک طرف) و درصد حفاظت از مرگ حیوانات حین تشنج به صورت مستقل ثبت شد و مورد ارزیابی قرار گرفت.

حیوانات مورد مطالعه در پنج گروه ۸ تایی تقسیم‌بندی شدند که عبارت از یک گروه شاهد و چهار گروه تحت درمان با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری بودند. ۳۰ دقیقه پس از تجویز داخل صفاقی نرمال سالین (در گروه شاهد) و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (در گروه‌های تحت درمان)، پنتیلین تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به موش‌ها تزریق شد و بلافاصله به قفس مخصوص منتقل شدند و در طی ۲۰ دقیقه رفتارهای تشنجی توسط دوربین فیلمبرداری گردید و سپس مراحل مختلف تشنج مورد ارزیابی قرار گرفت.

میزان اثربخشی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در پیشگیری علایم تشنج بر اساس متغیرهای زیر صورت گرفت:

زمان شروع هر یک از مراحل تشنج (Delay time)، مدت زمان مرحله تونیک و تونیک-کلونیک (Duration time)، مدت زمان کل تشنج جنرالیزه، تعداد پرش‌ها و از دست دادن تعادل حیوانات حین تشنج و تعداد مرگ و میر در هر گروه.

به این ترتیب در گروه شاهد و در گروه‌های درمان (پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری) کیندلینگ شیمیایی با تزریق پنتیلین تترازول با دوز ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی (IP) در حیوانات انجام شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه، رفتار و حرکات آنها توسط دوربین

فیلمبرداری ضبط شد و به صورت دقیق مورد مشاهده و ارزیابی قرار گرفت و تمامی متغیرهای ارزیابی به صورت دقیق در تمامی گروه‌ها ثبت گردید. در گروه‌های درمان قبل از تزریق پنتیلین تترازول، عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه به ترتیب با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید و پس از گذشت ۳۰ دقیقه پنتیلین تترازول به آنها تزریق شد.

روش‌های آماری

نتایج به دست آمده در این مطالعه به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردید. مقایسه آماری بین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون ANOVA و مقایسه بین گروه‌های آزمایشی توسط آزمون‌های تکمیلی نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) صورت گرفت و به منظور بررسی اختلاف آماری میانگین‌ها از آزمون ANOVA و سپس از آزمون‌های LSD و Tukey (Least significant difference) استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

تحلیل آماری داده‌ها در نمودار ۱ نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت ($P < 0.05$)، اما تزریق این عصاره در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم افزایش مدت زمان تأخیری در رسیدن به تشنج تونیک ایجاد کرد و باعث تفاوت معنی‌داری ($P < 0.01$) در تأخیر مدت زمان رسیدن به تشنج تونیک نسبت به گروه شاهد شد، همچنین تزریق

عصاره در دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم نیز سبب ایجاد این نوع تفاوت ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد گردید.

با توجه به نمودار ۲، تزریق عصاره در دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری ایجاد نکرد ($P < 0/05$). تزریق عصاره در دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به یک اندازه باعث تأخیر در زمان رسیدن به تشنج کلونیک شدند و تفاوت معنی داری ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد.

بخش دیگری از نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم و به عبارت دیگر در تمام گروه های درمانی، سبب کاهش محسوسی در مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک گشت و بدین ترتیب سبب ایجاد تفاوت معنی داری در تمام دوزهای این عصاره نسبت به گروه شاهد در مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک شد (نمودار ۳).

نمودار ۴ حاکی از آن است که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، زمان تأخیری رسیدن به تشنج تونیک-کلونیک را افزایش نداد و بدین ترتیب تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد در زمان تأخیری رسیدن به تشنج تونیک-کلونیک ایجاد نکرد ($P < 0/05$). تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم باعث افزایش زمان رسیدن به آستانه تشنج تونیک-کلونیک شده و تفاوت معنی داری ($P < 0/01$) در این کمیت نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد. همچنین تزریق عصاره در دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم اثرات درمانی بهتری نسبت به سایر دوزها داشت؛ به این ترتیب که با افزایش زمان

تأخیری، رسیدن به تشنج جنرالیزه تونیک-کلونیک سبب تفاوت محسوس و معنی داری ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد گشت (نمودار ۴).

همان طور که در نمودار ۵ مشاهده می شود، تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، مدت زمان باقی ماندن حیوانات در تشنج جنرالیزه تونیک-کلونیک را کاهش داد که این کاهش سبب به وجود آمدن تفاوت معنی داری ($P < 0/01$) در این کمیت نسبت به گروه شاهد شد، اما تزریق این عصاره در دوز ۶۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، تفاوت معنی داری ($P > 0/05$) نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد. با این حال تزریق عصاره در دوز ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک-کلونیک را کاهش داد و باعث ایجاد تفاوت معنی داری ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد شد (نمودار ۵).

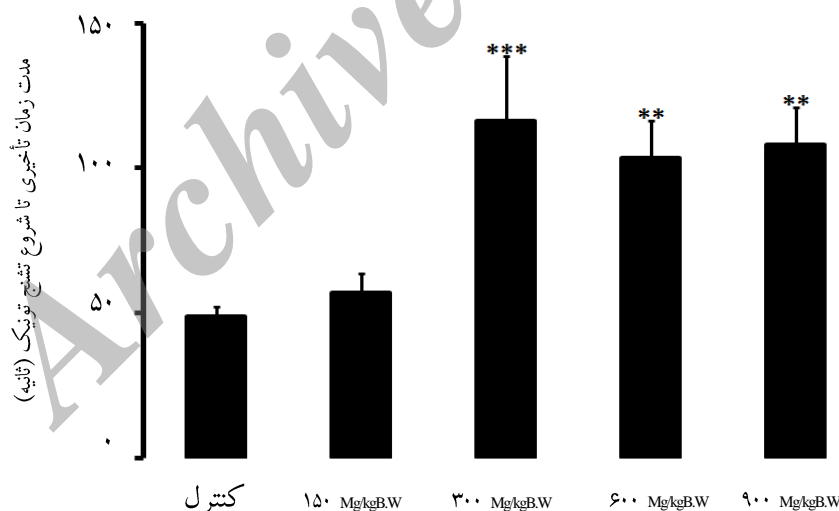
روند پاسخگویی حیوانات در نمودار ۶ به این صورت بود که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم سبب کاهش مدت زمان کل تشنج جنرالیزه شد که این نشان از خاصیت ضد تشنجی این عصاره دارد و به اثرات درمانی آن اشاره می کند؛ بدین ترتیب در مدت زمان کل تشنج جنرالیزه تمامی گروه های تحت درمان تفاوت معنی داری ($P < 0/01$) را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند (نمودار ۶).

تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، کاهشی را در میزان از دست دادن تعادل حیوان حین تشنج نشان نداد و تفاوتی از نظر معنی دار بودن با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0/05$)، اما تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی

رسید، اما این کاهش تفاوت معنی داری را نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد ($P < 0/01$). در گروه ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، تفاوتی در تعداد مرگ و میر حیوانات وجود نداشت (نمودار ۷). با توجه به مشاهدات می توان نتیجه گرفت که عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای فوق اثر سمی ندارد.

با توجه به یافته های ذکر شده، به نظر می رسد تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه بر شروع و باقی ماندن در هر یک از مراحل تشنج وابسته به دوز می باشد که در اکثر موارد افزایش دوز عصاره با افزایش آستانه هر یک از فازهای تشنج و کاهش مدت زمان باقی ماندن در هر یک از فازها و همچنین با کاهش از دست دادن تعادل و پرش و مرگ و میر حیوانات حین تشنج نیز رابطه مستقیمی داشت (نمودارهای ۱-۷).

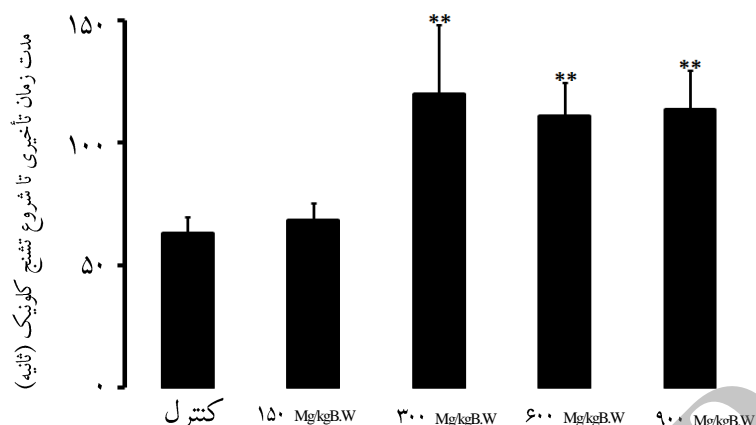
گیاه مخلصه در دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، نشان دهنده کاهش محسوس بر میزان از دست دادن تعادل توسط حیوان حین تشنج می باشد و این باعث به وجود آمدن تفاوت معنی داری در این گروه ها نسبت به گروه شاهد در کمیت زمین خوردن شد ($P < 0/01$) (نمودار ۷). همچنین تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم و به عبارت دیگر در تمام گروه های درمانی، سبب کاهش در تعداد پرش های حیوانات ناشی از تشنج شد که تفاوت معنی داری را ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد (نمودار ۷). تزریق این عصاره همچنین سبب کاهش در تعداد مرگ و میر حیوانات حین تشنج شد که این کاهش در گروه های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به صفر



نمودار ۱. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک (Tonic seizure latency) ناشی از تزریق پتیلین تترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

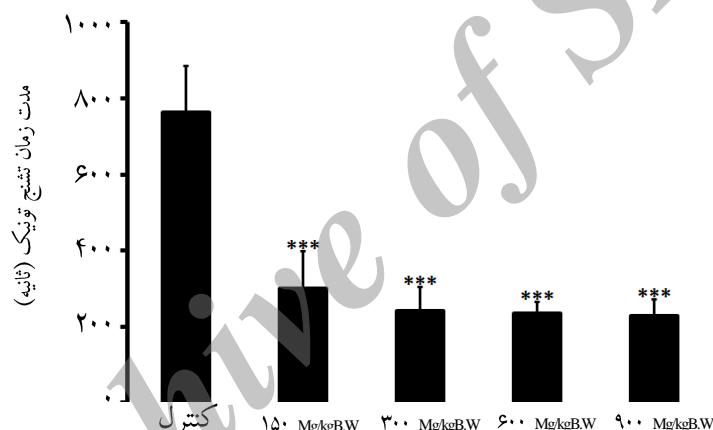
دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، کمیت Tonic seizure latency را در همه گروه های درمانی به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش دادند ($P < 0/01$)

برای همه گروه ها $n = 8$ می باشد



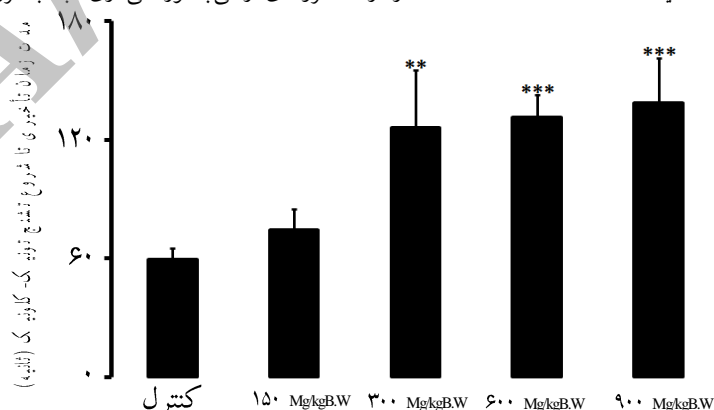
نمودار ۲. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج کلونیک (Clonic seizure latency) ناشی از تزریق پتیلین تترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، کمیت Clonic seizure latency را در همه گروه‌های درمانی به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش دادند ($P < 0.01$) برای همه گروه‌ها $n = 8$ می باشد



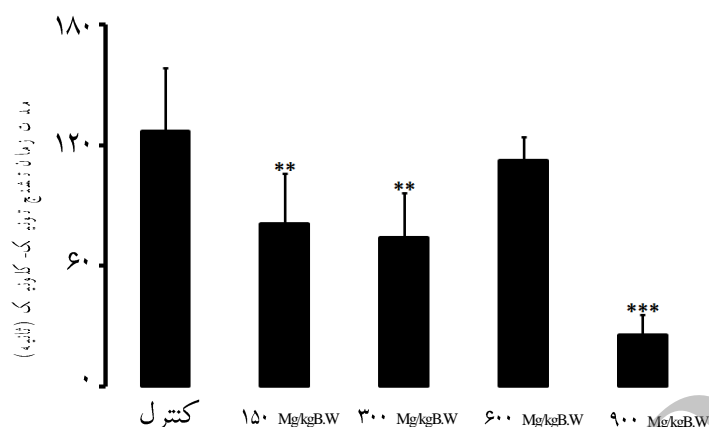
نمودار ۳. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان تشنج تونیک (Tonic seizure duration time) ناشی از تزریق پتیلین تترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

تمام دوزهای عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه، کمیت Tonic seizure duration time را در همه گروه‌های درمانی به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش دادند ($P < 0.001$) برای همه گروه‌ها $n = 8$ می باشد



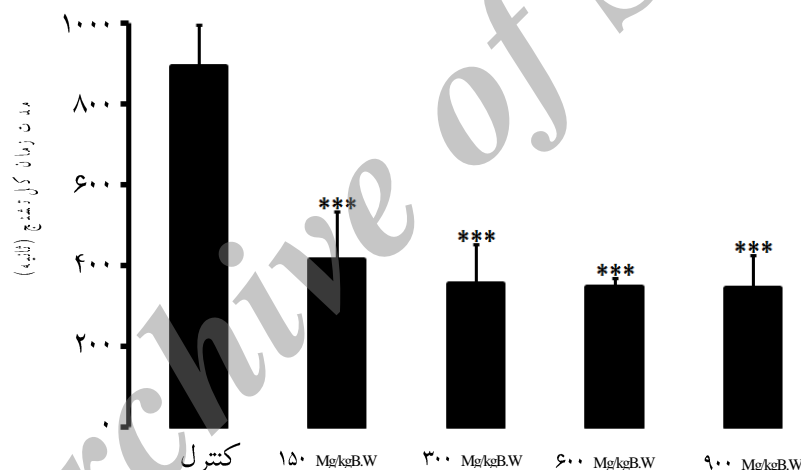
نمودار ۴. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک-کلونیک (Tonic-clonic seizure latency) ناشی از تزریق پتیلین تترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، کمیت Tonic-clonic seizure latency را به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش دادند ($P < 0.01$, $P < 0.001$) برای همه گروه‌ها $n = 8$ می باشد



نمودار ۵. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه منخله (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان تشنج تونیک-کلونیک (Tonic-clonic seizure duration time) ناشی از تزریق پتیلین ترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، کمیت Tonic-clonic seizure duration time را به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش دادند ($P < 0.01$ ، $P < 0.001$)، اما دوز ۶۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم تغییر معنی داری ایجاد نکرد ($P > 0.05$) برای همه گروه‌ها $n = 8$ می باشد



نمودار ۶. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه منخله (دوزهای ۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بر مدت زمان کل تشنج (Generalized seizure total time) ناشی از تزریق پتیلین ترازول (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم)

تمام دوزهای عصاره هیدروالکلی گیاه منخله، کمیت Generalized seizure total time را در همه گروه‌های درمانی به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش دادند ($P < 0.001$) برای همه گروه‌ها $n = 8$ می باشد

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که در مجموع، عصاره هیدروالکلی گیاه منخله در زمان شروع و مدت زمان تشنج خاصیت درمانی داشته است. این عصاره آستانه شروع تشنج را به تعویق می اندازد و تمام متغیرهای ارزیابی تشنج در این آزمایش را تحت کنترل خود قرار می دهد. این نتیجه کلی

بیان می دارد که عصاره هیدروالکلی این گیاه خاصیت ضد تشنجی دارد.

در مطالعه حاضر، تزریق عصاره هیدروالکلی این گیاه در دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم اثر معنی داری بر آستانه شروع تشنج نداشت (نمودارهای ۱، ۲ و ۴)، اما در مدت زمان تشنج‌ها و همین طور در مواردی مانند از دست

می‌تواند تحریک‌های شدید عصبی در سیستم عصبی مرکزی را کاهش داده و از این طریق آثار کاهنده و مهار کننده‌ای بر تشنجات صرعی اعمال کند.

در این تحقیق، بیشترین میزان پاسخ ضد صرعی عصاره هیدروالکلی این گیاه از نظر تأخیر در شروع پاسخ‌های تشنجی و مدت زمان باقی ماندن در مراحل تشنج و همین طور دیگر متغیرها شامل پرش‌های ناگهانی و از دست دادن تعادل و مرگ و میر به نظر می‌رسد مربوط به دوز ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بوده باشد (نمودارهای ۱-۷). با این توضیح چنین به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر، دوزهای ۹۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم کارآمدترین دوزها باشند (نمودار ۵) و هر چه میزان دوزها کاهش یابد، آثار ضد تشنجی عصاره این گیاه به طور محسوسی کاهش می‌یابد که البته این موضوع در آزمایش‌های بعدی با افزایش تعداد نمونه‌ها قابل بررسی می‌باشد (نمودارهای ۱-۷).

به هر حال برای فهمیدن و اثبات مکانیسم اثر عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری، آزمایش هم‌زمان اثر ضد صرعی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه همراه با بررسی وضعیت تحریکی گیرنده‌های اوپیوئیدی و نیز ماده مؤثره عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه بر صرع ناشی از پنتیلن تترازول مناسب می‌باشد.

در کل می‌توان به این نتیجه رسید که گیاه مخلصه در دوزهای مشخص می‌تواند به عنوان یک ترکیب ضد تشنجی عمل کند. با این نتیجه‌گیری می‌توان گیاه مخلصه را به عنوان گیاه ضد صرع در طب سنتی معرفی کرد. تعیین دوز دقیق، جداسازی و تعیین ماده مؤثر و شناخت دقیق مکانیسم اثر این گیاه از مواردی هستند که در مطالعات بعدی باید مدنظر قرار گیرند.

دادن تعادل و پرش و مرگ و میر حیوانات حین تشنج اثرات معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بر جای گذاشت (نمودارهای ۳، ۵، ۶ و ۷). تزریق عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم باعث ایجاد تأخیر معنی‌داری در زمان شروع تشنج تونیک، کلونیک و تونیک-کلونیک شد (نمودارهای ۱، ۲ و ۴) و توانست جلوی گسترش تشنجات صرعی را بگیرد. تجویز این عصاره همچنین باعث کاهش در مدت زمان تشنج تونیک و تونیک-کلونیک و زمان کل تشنج و همچنین باعث کاهش تعداد بروز عدم تعادل و پرش در حیوانات هنگام تشنج شد (نمودارهای ۳، ۵، ۶ و ۷). تجویز این عصاره در همه گروه‌های درمانی، مرگ و میر حیوانات را حین تشنج کاهش داد؛ به طوری که این تعداد در دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صفر رسید (نمودار ۷) و این حاکی از غیر سمی بودن عصاره هیدروالکلی این گیاه می‌باشد.

در مورد مکانیسم اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه در درمان صرع ابتدا باید به مکانیسم ایجاد صرع در این آزمایش پرداخته شود. بر طبق گزارش‌های قبلی، صرع ایجاد شده توسط پنتیلن تترازول (PTZ) که به آن صرع غیاب (Absence epilepsy) می‌گویند را می‌توان با داروهای کاهنده جریان کلسیم نوع T مانند اتوسوکسماید (Ethosuximide) مهار کرد. در بعضی تحقیقات به اثبات رسیده است که تحریک برخی گیرنده‌های اوپیوئیدی آثار ضد تشنجی ایجاد می‌کنند و به این دلیل که آگونیست‌های گیرنده‌های اوپیوئیدی اغلب بر کانال‌های کلسیم تأثیر می‌گذارند، باعث مهار ورود کلسیم به داخل سلول‌های عصبی می‌شود (۱۷). به احتمال زیاد عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه به وسیله تحریک گیرنده‌های اوپیوئیدی و با مهار کردن ورود کلسیم به داخل نورون پس‌سیناپسی

References

1. Sayyah M, Faraji H, Dehghani A, Bakhtiari H, Kamalinejad M, Narenjkar J. Screening of the anticonvulsant potential of some common medicinal plants of Iran in pentylenetetrazole and maximal electroshock seizure models in male mice. *Physiology and Pharmacology* 2011; 15(1): 66-71. [In Persian].
2. Hopkins A, Shorvon S, Cascino G. *Epilepsy*. London, UK: Chapman & Hall Medical; 1995. p. 38-42, 82.
3. Soltanzadeh A. *Neurologic Disorders*. Tehran, Iran: Jafari Publication; 1997. p. 236-8. [In Persian].
4. Theodore WH, Fisher R. Brain stimulation for epilepsy. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97(Pt 2): 261-72.
5. Levav I, Stephenson C, Theodore W. Epilepsy in Latin America and the Caribbean: a survey on needs and resources. *Rev Panam Salud Publica* 1999; 6(5): 342-5.
6. Dichter MA. The Epilepsies and Convulsive disorders. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 15/e Textbook & Self-Assessment and Board Review*. 15th ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional Publishing; 2001. p. 2223-33.
7. Rowland LP. *Merritt's Neurology*. 10th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins p. 231-4; 2000.
8. Reyes-Garcia V. The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: theoretical and methodological contributions. *J Ethnobiol Ethnomed* 2010; 6: 32.
9. Kim HJ, Jee EH, Ahn KS, Choi HS, Jang YP. Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS. *Arch Pharm Res* 2010; 33(9): 1355-9.
10. Shoohani B, Hemati AA, Taheri Moghadam M. Effects of *Scrophularia striata* Extract on Wound Healing in Rabbit. *J Ilam Univ Med Sci* 2010; 17(4): 9-16.
11. Heidari MR, Assadipour A, Rashid-farokhi P, Assad H, Mandegary A. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Extract on the Seizure Induced by Picrotoxin in Mice. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2005; 8(12): 1807-11.
12. Heidari MR, Mandegary A, Hosseini A, Vahedian M. Anticonvulsant Effect of Methanolic Extract of *Echium amoenum* Fisch and C.A. Mey. Against Seizure Induced by Picrotoxin in Mice. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2006; 9(4): 772-6.
13. Carvey PM. *Drug action in the central nervous system*. Oxford, UK: Oxford University Press p. 201; 1998.
14. Duke JA, Duke PK, DuCellier JL. *Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible*. Boca Raton, FL: CRC Press p. 503-4; 2008.
15. Mehrabani M, Modirian E, Ebrahimabadi A, Vafazadeh J, Shahnavaaz S, Heidari MR. Study of the Effects of Hydro-methanol Extracts of *Lavandula vera* DC. and *Cuscuta epithymum* Murr. On the Seizure Induced by Pentylenetetrazol in Mice. *J Kerman Univ Medici* 2007; 14(1): 25-32.
16. Katzung BG, Roger JP, Brian SM. Antiseizure drugs. In: Katzung BG, Editor. *Basic and Clinical Pharmacology*. New York,

- NY: *Lange Medical Books/McGraw Hill* 2004; P 379-400.
17. Rebrov IG, Karpova MN, Andreev AA, Kuzina OS, Kalinina MS, Abrosimov IY, et al. Effect of single injection of pentylenetetrazole in a subconvulsive dose on Cl-conductance of the GABAA-receptor complex. *Bull Exp Biol Med* 2004; 137(1): 13-6.

Archive of SID

Anticonvulsant Effect of Hydroalcoholic Extract of *Scrophularia Striata* Boiss. on Pentylenetetrazol-Induced Seizure in Mice

Alimohammadi B., B.Sc.¹, Azhdari-Zarmehri H., Ph.D.^{2*}, Sofiabadi M., Ph.D.³, Moslem A.R., M.D.⁴

1. Nursing Student, School of Nursing and Midwifery, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2. Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine and Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3. Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

4. General Practitioner, Healthy Aging Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

* Corresponding author; e-mail: hasan.azhdari@gmail.com

(Received: 2 Dec. 2012

Accepted: 19 Sep. 2013)

Abstract

Background & Aims: Epilepsy is a central nervous system disorder that appears as sudden convulsions, and transient, repetitive and unpredictable movement, with sensory-motor and autonomic sources. Nowadays, patients with epilepsy use various types of chemical drugs which turn out side effects and cause drug resistance in long-term use. Ease of using herbal plants and their public acceptance have provided them appropriate for pharmacological purposes. *Scrophularia striata* Boiss., plant grows in areas of Ilam in Iran, has been experimentally used in the treatment of various diseases. In this experiment, the effect of hydro-alcoholic extract of this plant was studied on pentylenetetrazol-induced seizures.

Methods: 40 male mice (25-30 g) were randomly selected and divided into five groups of 8, including a control group (receiving saline and pentylenetetrazol) and 4 treatment groups (receiving the extract doses of 150, 300, 600, 900 mg/kg). 30 minutes after intraperitoneal administration of saline and extract, pentylenetetrazol (80 mg/kg) was injected. The mice were immediately transferred to a special cage and convulsive behaviors were recorded by a camera during the 20 minutes. Then, the different phases of seizure were evaluated.

Results: Extract injection in dose of 150 mg/kg had no significant effect on onset time of different levels of seizure. But, extract injection in doses of 300 and 600 and 900 mg/kg delayed the onset time of tonic, clonic and tonic-clonic seizures. The extract administration in all treatment doses also reduced duration time of tonic and tonic-clonic seizures and decreased the numbers of imbalances and fallings in different seizure phases. As well, the extract decreased mortality to zero.

Conclusion: Our study indicated that the hydro-alcoholic extract of *Scrophularia striata* Boiss. has an appropriate anticonvulsant effect and it seems that the future studies are necessary to separate its ingredients and understand its mechanism of action.

Keywords: *Scrophularia striata* Boiss., Anticonvulsant effect, Pentylenetetrazol, Seizure

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(3): 207-218